

5AF-P02: ผลของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงต่อการเจริญเติบโตของไร่น้ำนางฟ้า Effects of Photosynthesis Bacteria on Growth of Thai Fairy Shrimp (Branchinella thailandensis)

มัทธูรา ละไบเด็น^{1*} และวรมะธ ดันยาลักษณ์¹

Matthura Labaiden^{1*} and Woramate Tonyaluk¹

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และสารแคโรทีนอยด์ของไร่น้ำนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design ; CRD) แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ประกอบด้วย ชุดการทดลองที่ 1 ไร่น้ำนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยคลอเรลล่า (ชุดควบคุม) ชุดการทดลองที่ 2 ไร่น้ำนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และชุดการทดลองที่ 3 ไร่น้ำนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยคลอเรลล่าร่วมกับแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (1:1) ทำการเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้า 100 ตัว ในถังทดลองขนาด 22 x 30 x 10 เซนติเมตร เติมน้ำ 2 ลิตร เป็นระยะเวลา 14 วัน จากผลการทดลองพบว่า ไร่น้ำนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงร่วมกับคลอเรลล่า มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.026 ± 0.011 กรัม/ตัว/วัน และมีอัตราการรอดตายสูงสุด 99.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์ของไร่น้ำนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยคลอเรลล่าร่วมกับแบคทีเรียสังเคราะห์แสงมีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 2.60 ± 0.08 มิลลิกรัม/กรัม ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p > 0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงร่วมกับคลอเรลล่า ในการเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้านั้นมีแนวโน้มทำให้ ไร่น้ำนางฟ้ามีการเจริญเติบโต และมีปริมาณแคโรทีนอยด์ดีขึ้น

คำสำคัญ: ไร่น้ำนางฟ้า แบคทีเรียสังเคราะห์แสง แคโรทีนอยด์

Abstract

This study aimed to investigate the growth, survival rate and carotenoid of Thai fairy shrimp cultured by using photosynthetic bacteria. The experiment design was Completely Randomized Design (CRD). There were 3 treatments with 3 replications each. One hundred Thai fairy shrimps were cultured in 22 x30 x10 centimeters of tanks containing 2 liters of water. Treatment 1 was Thai fairy shrimps cultured by using Chlorella sp. (control). Treatment 2 was Thai fairy shrimps cultured by using photosynthetic bacteria and treatment 3 was Thai fairy shrimps cultured by using Chlorella sp. integrated with photosynthetic bacteria (1:1). After 14 days, the results indicated that Thai fairy shrimps cultured by using Chlorella sp. integrated with photosynthetic bacteria had the highest average daily gain, 0.026 ± 0.011 grams/individual/day and survival rate was 99.00 percent which not significantly different ($p > 0.05$) in all treatments. The total carotenoid of Thai fairy shrimps cultured by using Chlorella sp. integrated with photosynthetic bacteria were 2.60 ± 0.08 milligram/gram which not significantly different ($p > 0.05$) in all treatments. This study demonstrates that cultivation of Thai fairy shrimps by using Chlorella sp. integrated with photosynthetic bacteria is likely to promote growth and total carotenoid.

Keywords: Thai fairy shrimp, photosynthetic bacteria, carotenoid

¹ คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ศูนย์พระนครศรีอยุธยา หันตรา

¹ Faculty of Agricultural Technology and Agro-Industry, Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi Phranakhon Si Ayutthaya (Huntra)

* Corresponding author. E-mail: matthura@hotmail.com

บทนำ

ไร่น้ำนางฟ้า (fairy shrimp) เป็นอาหารมีชีวิตที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและยังเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญเพราะมีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 64.94 ไขมันร้อยละ 5.07 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 17.96 นอกจากนี้ ไร่น้ำนางฟ้ายังเป็นองค์ประกอบอย่างหนึ่งในระบบนิเวศของแหล่งน้ำจืด และมีความสำคัญในห่วงโซ่อาหารในแง่เป็นอาหารของปลาและสัตว์น้ำอื่นๆ ซึ่งทำให้เกิดมีการถ่ายทอดพลังงานในระบบนิเวศ และที่สำคัญยังสามารถเพาะเลี้ยงได้ในเชิงการค้า เพื่อใช้สำหรับเป็นอาหารสัตว์น้ำทดแทนอาหารที่เมื่อยและอาหารสำเร็จรูป ได้แก่ การเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม ปลาเศรษฐกิจ และกุ้งเศรษฐกิจ เนื่องจากไข่อาร์ทีเมียมีราคาสูงและเลี้ยงสัตว์น้ำจืด นกกูลและละออสรี (2547) พบว่าสามารถเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าและสามารถผลิตไข่ได้ในปริมาณมาก เพราะมีจำนวนไข่เฉลี่ยราว 6,500-6,700 ฟองต่อแม่ไร่น้ำนางฟ้าหนึ่งตัว โดยแม่ไร่น้ำนางฟ้ามีจำนวนไข่ครั้งที่วางไข่เฉลี่ย 14 ครั้ง มีจำนวนไข่เฉลี่ย 460 ฟองต่อครั้งและมีช่วงอายุเฉลี่ย 25 วัน คลอเรลล่าเป็นแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียวที่นิยมใช้เลี้ยงไร่น้ำนางฟ้ากันอย่างแพร่หลาย แต่การเพาะคลอเรลล่าอาจมีปัญหาในช่วงฤดูมรสุมทำให้ได้ผลผลิตที่ไม่แน่นอน

แบคทีเรียสังเคราะห์แสงเป็นแบคทีเรียที่มี อยู่ทั่วไปตามพื้นดิน แหล่งน้ำตามธรรมชาติแบ่งออกเป็นกลุ่มได้หลายกลุ่มตามคุณสมบัติด้านต่างๆ ที่แตกต่างกัน แต่กลุ่มที่มีผู้นำมาศึกษา และใช้ประโยชน์มากคือกลุ่ม Purple nonsulfur ซึ่งจัดอยู่ในแฟมิลี Rhodospirillaceae จีโนส Rhodopseudomonas แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่มนี้มีลักษณะเด่นหลายประการคือ มีผนังเซลล์ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงอ่อนนุ่ม และย่อยได้ง่าย ไม่เป็นโรคหรือมีพิษกับสัตว์เลี้ยง สามารถเจริญได้ดีทั้งในสภาวะมีอากาศไม่มีแสงและในสภาพไม่มีอากาศ มีแสง (ศิริลักษณ์, 2531) แบคทีเรียกลุ่มนี้ได้รับความสนใจด้านแหล่งโปรตีนทดแทนในอาหารสัตว์น้ำ เช่น วรรณ (2528) ทดลองใช้ Rhodopseudomonas sphaeroides P47 ผสมกับอาหารปลาเพื่อเลี้ยงปลานิล พบว่ามีผลทำให้อัตราการรอดสูงขึ้น อัตราการเจริญเร็วขึ้น และเร่งระยะเวลาการตั้งไข่ นอกจากนี้ Xu-e and Zhaoxing (1993) ได้ใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในการอนุบาลลูกกุ้ง โดยผสมแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกับอาหารสังเคราะห์ พบว่าลูกกุ้งมีการเจริญเติบโต และการพัฒนาที่ดีกว่าชุดควบคุม และช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำอีกด้วย นอกจากนี้เมื่อผสมแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่ม Rhodobacter capsulatus ปริมาณ 0.01 เปอร์เซ็นต์ในอาหารเพื่อเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราต์ (Oncorhynchus mykiss) พบว่าการเกิดสี และอัตราการเจริญดีกว่าชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ และอาหารที่ผสมแคโรทีนอยด์สังเคราะห์ (Pradal, 1994) ดังนั้นในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และแคโรทีนอยด์ของไร่น้ำนางฟ้าที่เลี้ยงด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าและนำมาทดแทนอาร์ทีเมียในการนำไปใช้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไปในอนาคต

วิธีการศึกษา

1. การวางแผนการทดลอง

เลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าในอาหารต่างกัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ประกอบด้วย 3 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ไร่น้ำนางฟ้าเลี้ยงด้วยคลอเรลล่าที่มีความเข้มข้นเซลล์ 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร

ชุดการทดลองที่ 2 ไร่น้ำนางฟ้าเลี้ยงด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

ชุดการทดลองที่ 3 ไร่น้ำนางฟ้าเลี้ยงด้วยคลอเรลล่าผสมกับแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (1:1)

ทำการเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าในถังขนาด 22 x 30 x 10 เซนติเมตร เติมน้ำสะอาด 2 ลิตร คัดไร่น้ำนางฟ้าที่มีขนาดใกล้เคียงกันจำนวน 100 ตัวต่อถัง และใช้มุ้งเขียวคลุมถังเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าเพื่อป้องกันแมลงหรือสัตว์ไม่พึงประสงค์ไปวางไข่ ทำการเติมอาหารลงไปถังละ 100 มิลลิลิตร/วัน เลี้ยงเป็นระยะเวลา 14 วัน จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาหาอัตราการเจริญเติบโต (ADG; กรัมต่อตัวต่อวัน) อัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) และปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัม/กรัม) (Hirayama *et al.*, 1974)

2. การเตรียมคอลลอยด์

ทำการเตรียมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน นำไปพักไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วชั่งสูตรอาหาร (Table 1) ละลายส่วนผสมที่เตรียมไว้จนหมด หมักส่วนผสมทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นเทส่วนผสมที่หมักไว้ลงในน้ำที่เตรียมไว้ พร้อมกับใส่หัวเชื้อคอลลอยด์ความเข้มข้น 2×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ทำการกวนน้ำเพื่อช่วยให้คอลลอยด์ได้รับแสงอย่างทั่วถึงทุกวัน วันละ 2 ครั้ง เป็นระยะเวลา 4 วัน

Table 1 Diet formula for *Chlorella* sp. cultivation

Formula	Water 20 liters
Molasses	16 milliliters
synthetic fertilizer 16-20-0	1 gram
Urea 46-0-0	1 gram
<i>Chlorella</i> sp.	2 liters

3. การเตรียมแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

นำแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจากศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Glutamate malate (GM) ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร และทำการขยายเชื้อให้ได้ปริมาณมากในขวดขนาด 5 ลิตร ด้วยอาหารสูตร (Table 2) ผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วปิดฝาขวดเพื่อไม่ให้สิ่งปนเปื้อนเข้าไป และนำไปวางให้โดนแสงแดด หลังจากนั้นเขย่าขวดทุกวันเป็นเวลา 14 วัน

Table 2 Diet formula for photosynthetic bacteria cultivation

Formula	Water 5 liters
photosynthetic bacteria	2.5 liters
seasoning powder	1 tablespoon
egg	1
egg shell	1

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่าง ชุดการทดลอง โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (อนันต์ชัย, 2542)

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

1. อัตราการเจริญเติบโต

เมื่อสิ้นสุดการทดลองการเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าที่ใช้อาหารแตกต่างกันที่ระยะเวลา 14 วันพบว่า ไร่น้ำนางฟ้าในชุดการทดลองที่ 3 มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.026 ± 0.011 กรัม/ตัว/วัน ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับไร่น้ำนางฟ้าในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.017 ± 0.008 และ 0.019 ± 0.004 กรัม/ตัว/วัน (Table 3) ซึ่งสอดคล้องกับ Kobayashi (1995) และ Xu *et al.* (1992) ที่รายงานว่า การใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในการเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น อาร์ทีเมีย และไรติเฟอร์ สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของอาร์ทีเมียได้ดีกว่าการเลี้ยงอาร์ทีเมียด้วยสาหร่ายสีเขียวเพียงชนิดเดียว

Table 3 Average daily gain of Thai fairy shrimps cultured for 14 days

Treatment	Average daily gain (grams/ Thai fairy shrimp/day)
<i>Chlorella</i> sp.	0.017 ± 0.008^a
Photosynthetic bacteria	0.019 ± 0.004^a
<i>Chlorella</i> sp.+ Photosynthetic bacteria	0.026 ± 0.011^a

2. อัตราการรอดตาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลองของการเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าที่ใช้อาหารแตกต่างกันที่ระยะเวลา 14 วันพบว่า ไร่น้ำนางฟ้าในชุดการทดลองที่ 3 มีอัตราการรอดตายเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 99.00 ± 1.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับไร่น้ำนางฟ้าในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ซึ่งมีอัตราการรอดตายเฉลี่ยเท่ากับ 96.33 ± 3.21 และ 98.67 ± 2.31 เปอร์เซ็นต์ (Table 4)

นอกจากนี้ Xu-e and Zhaoxing (1993) ได้ใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในการอนุบาลลูกกุ้งโดยผสมแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกับอาหารสังเคราะห์ พบว่า ลูกกุ้งมีการเจริญเติบโต และการพัฒนาที่ดีกว่าชุดควบคุม และช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำอีกด้วย สอดคล้องกับรายงานของ Li *et al.* (1993) ที่พบว่า แบคทีเรียสังเคราะห์แสง มีโปรตีนร้อยละ 62 และที่สำคัญมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตครบถ้วน คือ วิตามินบี 2, วิตามินบี 12, กรดโฟลิก และไบโอติน และเมื่อนำไปใช้เลี้ยงกุ้ง พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการรอดของลูกกุ้งวัยอ่อน (post larvae) ได้ ร้อยละ 30 นอกจากนี้ยังเพิ่มความต้านทานโรคอีกด้วย

Table 4 Survival rate of Thai fairy shrimps cultured for 14 days

Treatment	Survival rate (percent)
<i>Chlorella</i> sp.	96.33 ± 3.21^a
Photosynthetic bacteria	98.67 ± 2.31^a
<i>Chlorella</i> sp.+ Photosynthetic bacteria	99.00 ± 1.00^a

3. ปริมาณแคโรทีนอยด์

เมื่อสิ้นสุดการทดลองของการเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าที่ใช้อาหารแตกต่างกันที่ระยะเวลา 14 วันพบว่า ไร่น้ำนางฟ้าในชุดการทดลองที่ 3 มีปริมาณสารแคโรทีนอยด์เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.60 ± 0.08 มิลลิกรัม/กรัม ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับไร่น้ำนางฟ้าในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ซึ่งมีปริมาณแคโรทีนอยด์เฉลี่ยเท่ากับ

2.48±0.90 และ 2.43±0.11 มิลลิกรัม/กรัม (Table 5) ซึ่งสอดคล้องกับ ศิริลักษณ์ (2531) พบว่าการผสมเซลล์แบคทีเรียสังเคราะห์แสงลงไปให้อาหารเพื่อเร่งสีผิวปลาแพนซีคาร์ฟ โดยผสมเซลล์แบคทีเรียสังเคราะห์แสงร้อยละ 8 และ 13.6 ในอาหารปลาอัดเม็ดเปียก และเลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปลาที่กินอาหารผสมเซลล์แบคทีเรียสังเคราะห์แสงมีผิวเข้มขึ้นแตกต่างกันทางสถิติจากปลาที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารพื้นฐานที่ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์

Table 5 Total carotenoid of Thai fairy shrimps cultured for 14 days

Treatment	Total carotenoid (milligram/gram)
<i>Chlorella</i> sp.	2.48±0.90 ^a
Photosynthetic bacteria	2.43±0.11 ^a
<i>Chlorella</i> sp.+ Photosynthetic bacteria	2.60±0.08 ^a

สรุป

การเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงร่วมกับคลอเรลลามีผลทำให้ไร่น้ำนางฟ้ามีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 0.026±0.011 กรัม/ตัว/วัน มีอัตราการรอดตายสูงสุด 99 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.60±0.08 มิลลิกรัม/กรัม แต่ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามการใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงร่วมกับคลอเรลล่าในการเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้ามีแนวโน้มที่ช่วยให้ไร่น้ำนางฟ้ามีอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สูงขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- นุฏล แสงพันธุ์ และ ละออศรี เสนาะเมือง. 2547. การเพาะเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้า. โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา, ขอนแก่น. น.9
- วรรณภา วงศ์กรชาวลิต. 2528. การเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำคั้นเปลือกและแกนสับปะรดและศักยภาพในการใช้เป็นอาหารปลา.
- วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ
- ศิริลักษณ์ จารุสมบัติ. 2531. การใช้เซลล์แบคทีเรียสังเคราะห์แสงในอาหารเพื่อเร่งสีผิวของปลาแพนซีคาร์ฟ (*Cyprinus carpio*).
- วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. น.15
- อนันต์ชัย เขื่อนธรรม. 2542. หลักการวางแผนการทดลองทดลอง. ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 348 น.
- Hirayama, O., E. Ando, K. Wamori and Hara, N. 1974. Colorimetric method to measure bacterial pigment. J.Agr. Chem. Soc. 48:97
- Kobayashi, M. 1995. Waste remediation and treatment using anoxygenic phototrophic bacteria. In: Blenkinship, R.E., Madigan, M.T., Bauer, C.E. (Eds.) Anamoxigenic phototrophic bacteria. Kluwer Academic, Dordrecht, 1272-1274 pp.
- Li, G., Yu, Y., Jiang, Y. and Ding, M. 1993. The test of photosynthetic bacteria used in prawn's breeding as additive. Mar. Sci. Haiyang Kexue. 1:52-54.
- Pradal, M. 1994. The photosynthetic bacteria *Rhodobacter capsulatus* as the food complement in the rainbow trout nutrition: Effects on coloration and growth. P. Assoc. Dev. Aquacult. Cestas Bordeaux-France Association-Pour-Le-Developpement-De-L-Aquaculture. 41:90 p.
- Xu B, M. Ding, J. Mao and H.S. Xu, 1992. The food value of *Phodopseudomonas spheroids* for *Brachionus plicatilis*. T Oceanol Limnol 2: 17-22. (in Chinese, Abstract in English)
- Xu-e, W. and Zhaoxing, S. 1993. Studies on utilization of photosynthetic bacteria in the artificial seed-breeding of prawns. Shandong-Fish-Qilu-Yuye. 6: 20-23.